



TITLE:

機能不全リボソームの分解に関わるユビキチンリガーゼ複合体の解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

坂田, 知子

CITATION:

坂田, 知子. 機能不全リボソームの分解に関わるユビキチンリガーゼ複合体の解析. 京都大学, 2015, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18833>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約は2016/01/01に公開

(続紙 1)

京都大学	博 士 (理 学)	氏名	坂田 知子
論文題目	機能不全リボソームの分解に関わるユビキチンリガーゼ複合体の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>正常な生命活動を維持するために、細胞は多くの品質管理機構を備えている。タンパク質合成を担うリボソームも、その製造段階から様々な品質管理を受けていることが近年の研究により明らかにされてきた。その一つが、活性部位に変異のある機能不全rRNAを選択的に分解する“nonfunctional rRNA decay (NRD)”という現象である。60Sリボソーム中の25S rRNAのNRD (25S NRD) には、Rtt101とMms1からなるCullin型E3ユビキチンリガーゼによるリボソームのユビキチン化が必要である。60Sリボソームの処理にはまずユビキチン-プロテアソーム系によるリボソームタンパク質の分解が必要だと考えられた。</p> <p>リボソームの品質管理機構の解明のため、リボソームのユビキチン化に注目して研究を開始した。Rtt101-Mms1 E3リガーゼ複合体は、機能不全リボソームを認識するレセプタータンパク質を備えていると考えられるが、その正体はわかっていない。このレセプタータンパク質の探索のため、Mms1との物理的相互作用が知られているタンパク質の中から25S NRDに必要なものがあるかを調べた。その結果、Crt10というWD40リピートをもつタンパク質が25S NRDに必要であることを発見した。Crt10はRtt101-Mms1からなるE3リガーゼ複合体と協力して、機能不全リボソームをユビキチン化することが確認された。</p> <p>しかし、Rtt101-Mms1-Crt10複合体とリボソームとの物理的相互作用は実験的に検出することができなかった。そのため、両者をつなぐ新たな因子が存在する可能性を考え、Mms1とCrt10の二段階免疫沈降により、新たな因子の同定を試みた。質量分析の結果、Paf1 Complex (Paf1C) と呼ばれる転写調節複合体が強く結合していることがわかった。Paf1は、1996年にRNA polymerase II に結合するタンパク質として同定され、ヒストン修飾酵素など、転写を調節する様々な因子が結合するプラットフォームとして機能すると考えられている。Paf1Cによって発現量が制御される遺伝子は細胞周期・ストレス応答関連遺伝子など数多い。しかし、Paf1Cは25S NRDに関与しないことがわかった。Crt10を含むE3リガーゼ複合体は、Paf1Cを介して25S NRD以外の働きをしていると予想される。</p> <p>Rtt101-Mms1複合体はMms22と結合し、Mms22はDNA修復に関わることが知られている。Mms22とCrt10は相互排他的にMms1に結合する。mms1 Δ 株やrtt101 Δ 株、mms22 Δ 株がDNA変異原に感受性となるのに対し、crt10 Δ 株では野生株と変わらなかった。この結果は、Crt10の関与する25S NRDが、DNA修復とは遺伝的に別個の経路であることを示している。</p> <p>核酸にダメージを与えるストレス下では多種の問題が発生するが、Rtt101-Mms1からなるE3リガーゼ複合体は多数のアダプタータンパク質を使い分けることで、一斉に対処することができる。本研究により、Crt10がこのE3リガーゼ複合体を25S NRDに適用させるがわかった。さらにCrt10がPaf1と結合することから、転写中のDNAやRNAに障害が生じた場合に、この複合体がCrt10とPaf1Cを介して転写を制御する可能性を示唆している。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

細胞は正しく機能を持った生体高分子を生産・維持するための品質管理機構を持っている。生体高分子のひとつ RNA もその例外ではない。しかし、タンパク質に比べて RNA の品質管理機構の研究は立ち遅れている。RNA の中でも、タンパク質の情報をコードする mRNA の品質管理機構については比較的良く研究されているが、それ以外の RNA の品質管理については情報が乏しい。

活性部位に変異のある機能不全リボソーム RNA が選択的に分解される “nonfunctional rRNA decay (NRD)” という現象は、比較的最近発見された新しい現象であり、このことからリボソームも厳格な品質管理を受けていることが分かる。申請者の研究室は、NRD 研究のパイオニアのひとつであり、過去に60S リボソーム中の25S rRNA の NRD (25S NRD) には、Rtt101と Mms1からなる Cullin 型 E3ユビキチンリガーゼによるリボソームのユビキチン化が必要であることなどを明らかにしていた。

しかし、Rtt101-Mms1 E3ユビキチンリガーゼ複合体は、NRD だけでなく DNA 修復にも関与することが分かっているため、このリガーゼ複合体を、この二つの異なる過程へと振り分ける役目をするようなアダプター因子の存在が想定されていた。申請者は、このユビキチンリガーゼ複合体を NRD に適用させると考えられる CRT10という因子を同定した。しかし意外なことに、このユビキチンリガーゼ複合体と CRT10の複合体の機能はさらに枝分かれし、この複合体は NRD だけではなく、Paf1C という複合体を介して転写調節にも関与することを示唆するデータが得られた。このことは、Rtt101-Mms1 E3ユビキチンリガーゼ複合体は多くの機能を持っており、それを異なる機能へと振り分ける因子の重要性を浮き彫りにする結果となった。

以上のように、申請者は Rtt101-Mms1 E3ユビキチンリガーゼ複合体を NRD へと振り分ける因子を同定し、さらにこの複合体の新規機能を示唆し、NRD のみならずユビキチン化の生物学的役割の理解に大きく貢献した。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成27年1月14日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行い、その結果合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降